



(19) **SU** ⁽¹¹⁾ **1 723 125** ⁽¹³⁾ **A1**
(51) Int. Cl.

STATE COMMITTEE
FOR INVENTIONS AND DISCOVERIES

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(71) Applicant:
INSTITUT KHIMICHESKOJ FIZIKI
IM.N.N.SEMENOVA

(72) Inventor: VASILEVA SVETLANA VASILEVNA,
KADORKINA GULNARA
KONSTANTINOVNA, KOSTYANOVSKIJ REMIR
GRIGOREVICH, MAKHOVA ELENA
VALENTINOVNA, PAVLOVA-REZAKOVA ANNA
GRIGOREVNA

(54) **MUTAGEN**

(57)
Изобретение относится к генетике, а именно к установлению мутагенной активности а, й бис-М-азиридианоалканов. Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение

безопасности работы с мутагеном, Показано, что а, аьбис-М-азиридианоалканы общей формулы $JM(CH_2)$ где п 3-8 и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов. 3 табл.

SU 1 723 125 A1

SU 1 723 125 A1



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

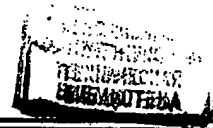
(19) SU (11) 1723125 A1

(51)5 C 12 N 15/01

12.00.892

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 4767001/13
(22) 08.12.89
(46) 30.03.92. Бюл. № 12
(71) Институт химической физики им. Н.Н.Семенова
(72) С.В.Васильева, Г.К.Кадоркина, Р.Г.Костяновский, Е.В.Махова и А.Г.Павлова-Резакова
(53) 575.224.4.08 (088.8)
(56) Бартошевич Ю.Э., Филиппова Л.М., Костяновский Р.Г., Генетика, 1966, № 4, с. 147-155.
Костяновский Р.Г., Паньшин О.А. Изв. АН СССР, сер. хим., 1965, № 3, с. 567-570.

(54) МУТАГЕН
(57) Изобретение относится к генетике, а именно к установлению мутагенной активности α, ω -бис-N-азиридиноалканов. Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с мутагеном. Показано, что α, ω -бис-N-азиридиноалканы общей формулы $\Delta N(CH_2)_n \Delta$, где $n = 3-8$ и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов. 3 табл.

Изобретение относится к генетике, а именно к экспериментальному доказательству высокой генетической (мутагенной) активности α, ω -бис-N-азиридиноалканов общей формулы $\Delta N(CH_2)_n \Delta$, где $n = 3-8$ и 12, которые могут найти практическое применение, в частности в микробиологической и с/х селекции, а также в биотехнологии и медицине.

Известна высокая мутагенная активность азиридина (этиленимина)

$\begin{matrix} CH_2 \\ | \\ CH_2-NH \end{matrix}$ в отношении индукции мутаций у различных организмов, включая индукцию His⁺ ревертантов у штаммов Salmonella typhimurium TA1535 и TA100 pKM101. При дозе мутагена 0,28 мМ на чашку число индуцированных His⁺ ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз, — для штамма TA1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) — для штамма TA100 pKM101.

Недостатки в практическом использовании азиридина связаны с тем, что это соединение легколетучее (Т_{кип.} 55) и пожароопасное, обладает кожноарывным действием.

Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с ним.

Известно применение α, ω -бис-N-азиридиноалканов в качестве компонент реактивных топлив, сшивающих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

Предложено использование α, ω -бис-N-азиридиноалканов в качестве мутагенов в отношении бактериальной клетки S. typhimurium TA100 с генотипом his G46 uvrB rfa pKM 101. Этот штамм является производным штамма S. typhimurium TA1535 и несет миссенс мутацию his G46, ту же, что и в штамме TA1535. В качестве тест-объекта использован также TA1535.

SU 1723125 A1

1 A 1 2 3 1 2 5 A 1

(19) SU (11) 1723125 A1

Изобретение относится к генетике, а именно к экспериментальному доказательству высокой генетической (мутагенной) активности а,и-бис-азиридианоалканов общей формулы $N(CH_2)_nN$, где n 3-8 и 12, которые могут найти практическое применение, в частности в микробиологической и с/х селекции, а также в биотехнологии и медицине.

Известна высокая мутагенная активность азиридина (этиленимина) CH_2CHNH

CH_2CH в отношении индукции мутаций у различных организмов, включая индукцию His⁺ ревертантов у штаммов *Salmonella typhimurium* TA1535 и TA100 pKM101. При дозе мутагена 0,28 мМ на чашку число индуцированных His⁺ ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз, для штамма TA1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) - для штамма TA100 pKM101.

Недостатки в практическом использовании азиридина связаны с тем, что это соединение легколетучее (ТКип. 55) и пожароопасное, обладает кожонравным действием.

Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с ним.

Известно применение а,и-бис-М-ази-ридиноалканов в качестве компонент реактивных топлив, сшивающих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

Предложено использование а,и-ш-бис- N-азиридианоалканов в качестве мутагенов в отношении бактериальной клетки *S. typhimurium* TA100 с генотипом his G46 *uvrB rfa* pKM 101. Этот штамм является производным штамма *S. typhimurium* TA1535 и несет миссенс мутацию his G46, ту же, что и в штамме TA 1535. В качестве тест-объекта использован также TA1535.

сп
с
XI ND OJ
Ю СЛ

Для изучения мутагенной активности указанных химических соединений использован классический тест Эймса, основанный на учете числа His ревертантов на чашке Петри в зависимости от дозы внесенного соединения.

а,и-бис-бл-азиридианоалканы устойчивые, высококипящие жидкости с ТКип. 190-220°C. Они были впервые получены реакцией а,и-диаминалкана и 1,2-дигало-генэтана в среде 1,2-дихлорэтана или в бен-золе в присутствии 50% щелочи при 60-70°C.

Пример 1. а,и-бис-М-азиридиано-тан. Мутагенная активность на бактериальной клетке *Salmonella typhimurium* TA1535 0,1 мл раствора а,и-бис-М-азиридиано-бута-на заданной концентрации в воде добавляют к 2 мл 0,6%-ного водного агара, содержащего 0,5% NaCl, биотин и гистидин (по 10 мл 0,5 мМ раствора на 80 мл такого водного агара), 0,1 мл свежей ночной культуры бактерий *S. typhimurium* TA1535 с титром 1-5 10⁸ кл/мл и 0,5 мл фосфатного буфера Серенсена pH

7,4. Пробирку с этим верхним агаром встряхивают, перемешивают содержимое, и быстро выливают в чашку Петри на поверхность нижнего минимального агара, содержащего 2% агар с MgSO₄, глюкозой и концентратом солей. После надежного застывания верхнего слоя чашки Петри переворачивают и инкубируют в термостате при 37°C 48 ч, после чего учитывают число His ревертантов. Для учета спонтанного фона частоты спонтанных мутаций вместо раствора мутагена в пробирку с 0,6%-ным агаром вносят 0,1 мл воды.

Мутагенную активность других опытных соединений изучают в соответствии с данной методикой. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Анализ данных табл. 1 свидетельствует о том, что все изученные соединения обладают выраженным мутагенным действием, при их использовании частота индуцированных His ревертантов превышает спонтанные показатели в десятки и сотни раз. Наибольшую активность при этом проявляют азиридианоалканы с числом групп CH_2 , равным 4-7.

Пример 2. а,и-бис-14-азиридиано-тан. Мутагенная активность на бактериальных клетках *Salmonella typhimurium* TA100 pKM101.

Испытание мутагенной активности проводят аналогично методу, описанному в примере 1, но в качестве тест-объекта используют штамм *S. typhimurium* TA100, содержащий плазмиду pKM101.

В табл. 2 приведены результаты изучения мутагенной активности а,и-бис-М-азиридиано-бута-на и других азиридианоалканов в отношении штамма *S. typhimurium* TA100 pKM101.

Как следует из табл. 2 и 1, зарегистрирован выдающийся мутагенный эффект соединения ряда а,и-бис-бл-азиридианоалканов с n 3-8; для отдельных соединений превышение спонтанного фона достигает 250 раз. Мутагенный эффект соединения с n 12 выражен слабее.

Пример 3. Сравнительная мутагенная активность 1 мМ растворов а,и-бис-1-ази-ридиноалканов на *S. typhimurium* TA100 pKM101.

Эксперименты проводят в соответствии с методом в примере 2, однако все соединения испытывают в эквимольных дозах- 0,7 мМ на чашку. Результаты экспериментов приведены в табл. 3. Для сравнения изучен также 0,7 мМ азиридин.

Из данных табл. 3 следует, что так и в предыдущих опытах, наибольшую активность проявили а,и-бис-гл-азиридианоалка-ны с числом n 4-8, как в абсолютных значениях количества колоний-ревертантов

на чашку, так при расчете числа His ревертантов на 1 мМ препарата.

Меньшую активность показывают соединения с числом n 3 и 12. Однако и они являются мутагенами, так как в соответствии со стандартным тестом Эймса мутагенными считаются соединения, вызвавшие превышение спонтанного фона не менее чем в 2 раза.

Таким образом, а,и-бис-1-

1-азиридиноалканы обладают выраженным - а некоторые из выдающимися мутагенным эффектом на бактериальной клетке. Мутагенная эффективность соединений с л 4-8 значительно превышает эффективность известного супермутагена ази- ридина (этиленimina), при испытании в одной и той же генетической системе, а большая устойчивость и высокая температура их кипения в сравнении с азиридином

делает практическое использования а, бис-1М-азиридиноалканов значительно менее опасным.

Формула изобретения Применение а, аМзис-М-азиридиноалка- нов общей формулы $N(CH_2)_pN$, где p 3 или 4, или 5, или 6, или 7, или 8, или 12, в качестве мутагена.

Таблица 1



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

№ SU 1723125 A1

опт. С. 12 Н 15/01

ПОСРЕДСТВОМ СВИДЕТЕЛЬСТВА
О ПЕРВИЧНОСТИ И ПРИНЦИПИАЛЬНОСТИ
ИЗобретения СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(1) КЛАССЫФИКАЦИЯ
(2) № 12.01
(3) Исходный номер заявки
(4) № 12.01.82, № 12
(5) Исходный номер заявки
(6) С.А.Заровин, Г.А.Заровин, Р.Г.Савицкий, Е.В.Майков, А.Г.Лавров-Росов
(7) В.И.Заровин (С.З.), Фоминский А.М., Ко-
стиковский Р.Г. Гентель, 1988, № 4, с. 147-
155.
Классификация: Р.Г. Пашин, О.А. Ко-
ва, СССР, с.р. нм, 1988, № 3, с. 167-170.

(8) МУТАГЕН
(9) Мутагенное действие в природе, в
микроорганизмах, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.
Мутагенное действие в природе, в
организме человека, в организме животных,
в организме растений, в организме
микроорганизмов, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.
Мутагенное действие в природе, в
организме человека, в организме животных,
в организме растений, в организме
микроорганизмов, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.

Изобретение относится к генетике, в
частности к мутагенезу. Известно, что
мутагенное действие в природе, в
организме человека, в организме животных,
в организме растений, в организме
микроорганизмов, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.
Мутагенное действие в природе, в
организме человека, в организме животных,
в организме растений, в организме
микроорганизмов, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.

Известно, что мутагенное действие в
природе, в организме человека, в
организме животных, в организме растений,
в организме микроорганизмов, в клетках,
в тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.
Мутагенное действие в природе, в
организме человека, в организме животных,
в организме растений, в организме
микроорганизмов, в клетках, в
тканях, в организме человека, в
организме животных, в организме растений.

SU 1723125 A1

SU 1723125 A1

Продолжение табл. 2

Соединение	Концентрация		Число His ⁺ ревер- тантов на чашку	Кратное превы- шение спонтан- ного фона, раз
	мг/чашку	мМ/чашку		
$\Delta N(CH_2)_{12}N \Delta$	0,0017	0,004	62	1,0
	0,017	0,04	66	1,06
	0,17	0,4	156	2,66
Спонтанный фон	0	0	62	

Таблица 3

Число His ревертантов, индуцированных α, ω -бис-N-азиридиноалканами в *Salmonella typhimurium* TA100 рKM101 в расчете на 1 мМ.

Соединение	Число His ревертантов на чашку (а)	Число His ревертантов на 1 мМ (б)
ΔNH	400	571
$\Delta N(CH_2)_3N \Delta$	223	179
$\Delta N(CH_2)_4N \Delta$	1280	1688
$\Delta N(CH_2)_5N \Delta$	1012	1305
$\Delta N(CH_2)_6N \Delta$	1034	1338
$\Delta N(CH_2)_7N \Delta$	996	1283
$\Delta N(CH_2)_8N \Delta$	362	429
$\Delta N(CH_2)_{12}N \Delta$	245	210
Спонтанный фон	62	

а - среднее из трех независимых экспериментов
б - за вычетом спонтанного фона

5

10

Редактор Н.Горват Составитель - С.Васильева
Техред М.Моргентал Корректор Э.Лончакова

Заказ 1042 Тираж Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР,
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101

SU 1723125 A1

SU 1723125 A1

THIS PAGE BLANK

SU 1723125

L3 ANSWER 1 OF 1 CAPLUS COPYRIGHT 2005 ACS on STN

AN 1993:75205 CAPLUS

DN 118:75205

Bis-N-aziridinealkanes as mutagens

IN Vasil'eva, S. V.; Kadorkina, G. K.; Kostyanovskii, R. G.; Makhova, E. V.; Pavlova-Rezakova, A. G.

PA Semenov, N. N., USSR

SO U.S.S.R.

From: Izobreteniya 1992, (12), 129.

DT Patent

LA Russian

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
PI SU 1723125	A1	19920330	SU 1989-4767001	
19891208 <--				
PRAI SU 1989-4767001		19891208		
AB Bis-N-aziridinealkanes (I; n = 3-8, 12) are mutagens.				

IT Alkanes, compounds

RL: BIOL (Biological study)

(bisaziridine derivs., as mutagens)

IT Mutagens

(bisaziridinealkanes)

IT 18924-57-7 25781-25-3 40717-38-2 56522-41-9 134753-77-8

134753-78-9 134753-79-0

RL: BIOL (Biological study)

(as mutagen)

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

009398212

WPI Acc No: 1993-091686/ 199311

Alpha, omega-bis-N-aziridino-alkane(s) used as chemical mutagens – are prepd. by reacting alpha, omega-diaminoalkane with dihalo-ethane in dichloroethane or benzene in presence of alkali

Patent Assignee: CHEM PHYS INST

Inventor: KADORKINA G K; KOSTYANOVSKII R G; VASILEVA S V

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
SU 1723125	A1	19920330	SU 4767001	A	19891208	199311 B

Priority Applications (No Type Date): SU 4767001 A 19891208

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
SU 1723125	A1		4	C12N-015/01	

Abstract (Basic): SU 1723125 A

Alpha, omega -bis-N- aziridinoalkanes of formula (I), where n = 3-8 and 12 is obtd. by

THIS PAGE BLANK (USPTO)

SU 1723125 cont.

reacting alpha, omega-diaminoalkane with 1,2-dihaloethane in 1,2-dichloroethane or benzene, in the presence of 50% alkali, at 60-70 deg.C.

USE/ADVANTAGE - In genetics. (I) find novel use as chemical mutagens. They are safer and more active than the parent aziridine of formula (II), and are used as mutagens for bacterial cells of *Salmonella typhimurium* TA 100 with the genotype hisG46uvrBrfa pKM 101. The cpd. boils at much higher temp. of 190-220 deg.C, compared with (II) which boils at 50 deg.C.
Bul.12/30.3.92

THIS PAGE BLANK (USPTO)